

**SITOTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH NAGA (*Hylocereus
polyrhizus*) DAN KULIT PINANG (*Areca vestiaria*) TERHADAP SEL T47D
DENGAN METODE MTT ASSAY**



Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I pada Fakultas Farmasi

Oleh:

ANNA AMALIA TANZIL

K 100 130 061

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2016**

HALAMAN PERSETUJUAN

**SITOTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH NAGA (*Hylocereus
polyrhizus*) DAN KULIT PINANG (*Areca vestiaria*) TERHADAP SEL T47D
DENGAN METODE MTT ASSAY**

PUBLIKASI ILMIAH

Oleh:

ANNA AMALIA TANZIL

K 100 130 061

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



Dr. Harvoto, M.Sc

NIP. 196206061988031001

HALAMAN PENGESAHAN

SITOTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH NAGA (*Hylocereus polyrhizus*) DAN KULIT PINANG (*Areca vestiaria*) TERHADAP SEL T47D DENGAN METODE MTT ASSAY

OLEH

ANNA AMALIA TANZIL

K 100 130 061

Telah dipertahankan di depan Penguji
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada hari Kamis, 22 Desember 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dewan Penguji:

1. Dr. Muhammad Da'i, M.Si., Apt.

(Ketua Penguji)

2. Wahyu Utami, Ph.D., Apt

(Anggota I Penguji)

3. Dr. Haryoto, M. Sc.

(Anggota II Penguji)

(.....)
(.....)
(.....)

Dekan,



Azis Saifudin, Ph.D., Apt

NIK. 956

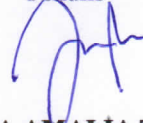
PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 29 November 2016

Penulis



ANNA AMALIA TANZIL

K 100 130 061

SITOTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH NAGA (*Hylocereus polyrhizus*) DAN PINANG (*Areca vestiaria*) TERHADAP SEL T47D DENGAN METODE MTT ASSAY

Abstrak

Kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan kulit Pinang (*Areca vestiaria*) diketahui mengandung golongan senyawa fenolik, flavonoid dan alkaloid yang berpotensi sebagai senyawa sitotoksik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sitotoksitas kulit buah naga dan kulit pinang. Sampel kulit buah naga dan kulit pinang dimaserasi dengan etanol 96% selama 3x24 jam, kemudian dilakukan evaporasi. Rendemen ekstrak kental yang diperoleh dari proses maserasi adalah sebesar 17,79 % (kulit buah naga) dan 11,11 % (kulit pinang). Kedua ekstrak tersebut diuji sitotoksiknya terhadap sel T47D menggunakan metode MTT. IC_{50} yang diperoleh dari masing-masing ekstrak etanol kulit buah naga dan pinang yaitu >1000 dan 661 $\mu\text{g/mL}$. Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit buah naga dan kulit pinang tidak memiliki efek sitotoksik terhadap sel T47D.

Kata kunci : *Hylocereus polyrhizus*, *Areca vestiaria*, IC_{50}

Abstract

Dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peels and pinang (*Areca vestiaria*) contain a group of phenolic compounds, flavonoids and alkaloids potentially cytotoxic compounds. This study aimed to determine cytotoxicity dragon fruit peel and pinang. A sample of dragon fruit peels and pinang macerated with 96% ethanol for 3x24 hours, then do evaporation. The yield of the viscous extract obtained from the maceration were processed is equal to 17.79% (dragon fruit peel) and 11.11% (pinang peel). Both extracts were tested for cytotoxicity against T47D cells using MTT assay. IC_{50} that obtained from each ethanol extract of dragon fruit peel and pinang is >1000 and 661 $\mu\text{g/mL}$. This experiment conclude that the ethanol extract of dragon fruit peel and pinang does not have a cytotoxic effect against T47D cells.

Keywords : *Hylocereus polyrhizus*, *Areca vestiaria*, IC_{50}

1. PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia (Pusat Data dan Informasi Kesehatan Kemenkes RI, 2015). Pada tahun 2012 kanker payudara merupakan penyakit kanker dengan persentase kasus baru tertinggi, yaitu sebesar 43,3%, dan persentase kematian akibat kanker payudara sebesar 12,9% (IARC, 2012). Pengobatan pada kanker payudara meliputi operasi, radioterapi, kemoterapi, terapi hormonal dan terapi bertarget (Roche, 2016). Antikanker yang ideal bersifat selektif, yaitu hanya aktif pada sel kanker, namun tidak merusak sel normal (Kurnijasanti, 2008). Bahan alam yang dianggap potensial sebagai agen antikanker perlu dieksplorasi untuk digunakan sebagai salah satu alternatif pengobatan kanker yang memiliki risiko efek samping minimum (Ikawati, 2008). Beberapa bahan alam yang dianggap memiliki efek potensial terhadap pengobatan kanker adalah buah naga dan pinang.

Buah naga mengandung senyawa flavonoid, fenolik dan alkaloid (Jaafar *et al.*, 2009), sedangkan pinang juga diketahui mengandung golongan senyawa alkaloid, tanin (Rätsch, 2005), fenolik dan flavonoid (Mokoginta *et al.*, 2013). Kulit buah naga dan pinang diketahui memiliki aktivitas sitotoksik. Aktivitas sitotoksik kulit buah naga terhadap sel Caco-2 (kanker usus) ditunjukkan dengan IC_{50} sebesar 0,084 mg/mL (Okonogi *et al.*, 2007) dan sel MGC-803 dengan nilai IC_{50} 0,43 mg/mL (Luo *et al.*, 2014). Penelitian Miranti *et al.*, (2014) menunjukkan bahwa biji pinang mempunyai nilai LC_{50} sebesar 1,972 ppm. Runtuwene dan Paendong (2011) dalam penelitiannya juga menyebutkan bahwa daun pinang mempunyai LC_{50} sebesar 101,912 ppm.

Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut dan belum adanya penelitian terhadap sel T47D, sehingga menimbulkan pemikiran bahwa perlu dilakukan pengujian aktivitas sitotoksik kulit buah naga dan kulit pinang terhadap sel T47D.

2. METODE

2.1 Pembuatan ekstrak

Ekstrak dibuat berdasarkan metode ekstraksi maserasi, yaitu dengan merendam serbuk kulit buah naga dan kulit pinang kering masing-masing 100 g dengan 0,75 L etanol 96% selama 3 x 24 jam, sambil sesekali diaduk. Maserat disaring menggunakan corong buchner, dan diperoleh filtrat etanol. Ampas yang dihasilkan dari proses penyaringan diremaserasi dengan perlakuan yang sama sebanyak 3 kali. Filtrat etanol yang diperoleh, dikumpulkan kemudian dipekatkan menggunakan bantuan *vacuum rotary evaporator* dan *waterbath* sehingga diperoleh ekstrak kental.

2.2 Uji kandungan senyawa dengan KLT

Fase diam yang digunakan yaitu silika gel GF₂₅₄. Ekstrak etanol ditotolkan pada plat silika dan dibiarkan hingga kering, kemudian dielusi menggunakan fase gerak n-heksana : etil asetat (7:3) dan kloroform : etilasetat (1:1) dengan jarak pengembangan 5 cm. Bercak disemprot dengan pereaksi semprot Dragendorf, FeCl₃ dan Sitroborat, kemudian diamati pada UV₂₅₄ nm dan UV₃₆₆ nm.

2.3 Uji Sitotoksik

2.3.1 Pemanenan sel

Sel T47D diamati menggunakan mikroskop *inverted*, apabila sudah 80% konfluen, media kultur dibuang dengan bantuan pipet *Pasteur* steril. Sel dicuci dengan PBS kemudian ditambahkan tripsin-EDTA dan diinkubasi selama 3-5 menit. Sel diamati di bawah mikroskop *inverted* untuk memastikan apakah sel sudah terlepas atau belum dari *cell culture disk*. Media kultur 5 mL ditambahkan untuk menginaktivasi tripsin-EDTA 0,05%. Sel dipindahkan ke dalam *conical tube* steril dan ditambah media kultur 10 mL. kemudian diambil 10µL dan dihitung jumlah selnya menggunakan *Haemocytometer*.

2.3.2 Pembuatan larutan uji

Larutan stok sampel dibuat dengan melarutkan masing-masing 10 mg ekstrak etanol kulit buah naga dan kulit pinang ke dalam 100 µL DMSO 0,25% dan ditambahkan media *ad* 10 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 1000µg/mL larutan stok untuk membuat seri konsentrasi kadar (1000; 500; 250; 125 dan 62,5 µg/mL).

2.3.3 Uji Sitotoksik MTT

Sel T47D disuspensikan ke dalam media kultur sebanyak 100 µL (kepadatan 5×10^3 sel/sumuran) dan dimasukkan ke dalam *plate 96*, diinkubasi selama 48 jam pada inkubator CO₂ 5%, kemudian media dibuang. Sampel ekstrak dalam media ditambahkan 100 µL ke dalam tiap-tiap sumuran yang berbeda kadar (1000; 500; 250; 125; 62,5 µg/mL). Plate diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5% selama 48 jam, setelah itu cairan dibuang dan ditambahkan 100 µL larutan MTT 0,5 mg/mL dalam media kultur. Sel disimpan kembali dalam inkubator CO₂ 5% selama 3 jam. Setelah 3 jam, ditambahkan SDS 10% dalam HCl sebanyak 100 µL/sumuran. Plate diinkubasi selama semalam pada suhu kamar di tempat gelap untuk melarutkan formazan yang merupakan hasil reaksi antara enzim mitokondria sel hidup dengan MTT. Akhir masa inkubasi, serapan dibaca dengan *ELISA reader* pada panjang gelombang 595nm. Data absorbansi yang diperoleh kemudian dihitung persentase sel hidup.

Persentase sel hidup dihitung dengan regresi linier antara log konsentrasi dengan % sel hidup menghasilkan persamaan linear $Y=bX+a$. IC_{50} diperoleh dengan mensubstitusi nilai 50 pada Y sehingga diperoleh X dan IC_{50} merupakan nilai X. Rumus perhitungan % sel hidup:

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{(\text{abs perlakuan} - \text{abs kontrol medium})}{(\text{abs kontrol pelarut} - \text{abs kontrol medium})} \times 100 \%$$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Rendemen ekstrak

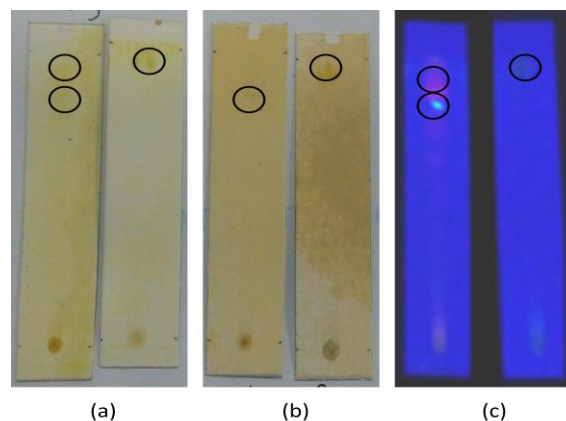
Hasil rendemen masing-masing ekstrak etanol kulit buah naga dan kulit pinang yaitu 17,79 % dan 11,11 %, dapat dilihat pada Tabel 1. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian dilakukan identifikasi kandungan senyawa dengan KLT.

Tabel 1. Rendemen ekstrak etanol kulit buah naga dan kulit pinang

Sampel	Berat serbuk	Berat ekstrak	Rendemen
Kulit Buah Naga	100 gram	17,79 gram	17,79 %
Kulit Pinang	100 gram	11,11 gram	11,11 %

3.2 Uji KLT

Hasil KLT yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah naga mengandung senyawa golongan alkaloid dan flavonoid, sedangkan ekstrak etanol kulit pinang mengandung senyawa golongan alkaloid dan tanin, dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 2.



Gambar 1. Hasil KLT ekstrak etanol kulit buah dan kulit pinang dengan pereaksi semprot Dragendorf, $FeCl_3$ dan Sitroborat (a) dan (b) deteksi pada sinar tampak (c) deteksi pada UV 366nm

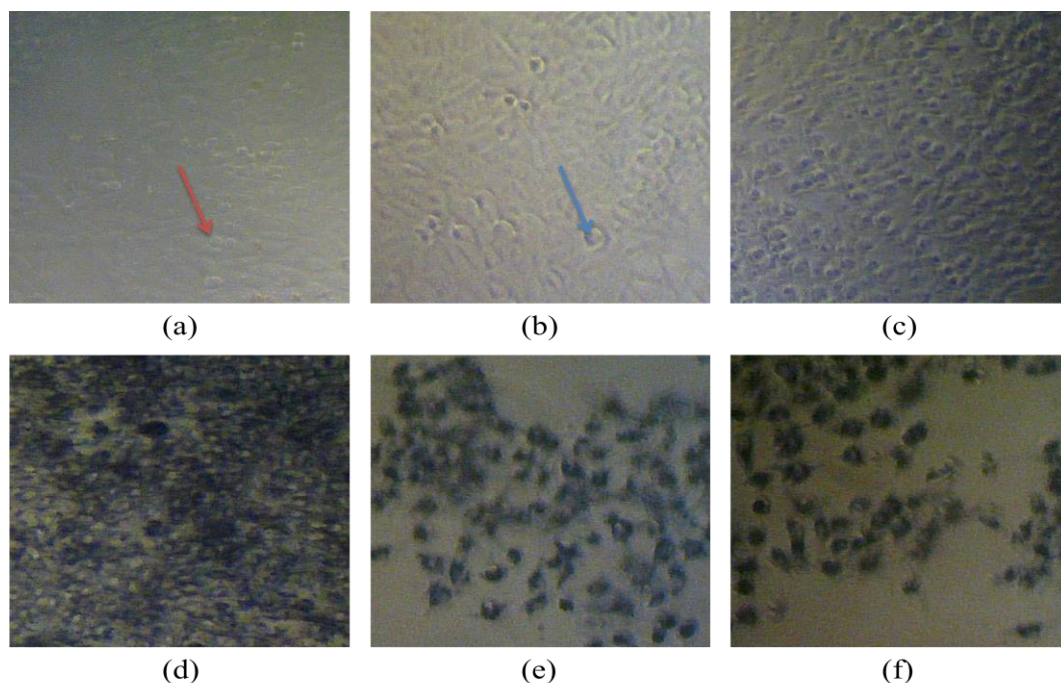
Tabel 2. Hasil Uji KLT dengan pereaksi semprot Dragendorf, $FeCl_3$ dan Sitroborat

Sampel	Penampakan Bercak			Hasil
	Dragendorf Visual	$FeCl_3$ Visual	Sitroborat UV 366nm	
Kulit Buah Naga	Orange kecoklatan	Orane kecoklatan	Jingga	Alkaloid, Flavonoid
Kulit Pinang	Orange kecoklatan	Keabu-abuan	Keabu-abuan	Alkaloid, Tanin

Deteksi golongan senyawa pada bercak KLT menggunakan pereaksi semprot Dragendorff, FeCl_3 dan Sitroborat. Dragendorff, FeCl_3 dan Sitroborat masing-masing digunakan untuk mendeteksi adanya alkaloid, tannin dan flavonoid. Alkaloid muncul sebagai bercak berwarna kecoklatan yang terlihat pada sinar tampak (visual), tanin akan berwarna abu-abu sampai biru pada sinar tampak (visual), sedangkan flavonoid akan berfluoresensi kuning-jingga pada UV 366nm (Saifudin, 2014). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah naga mengandung senyawa golongan alkaloid dan flavonoid, sedangkan ekstrak etanol kulit pinang mengandung senyawa golongan alkaloid dan tanin. Hasil tersebut menunjukkan kesesuaian terhadap penelitian Jaafar *et al.* (2009) bahwa buah naga mengandung flavonoid dan alkaloid, serta penelitian Rättsch (2005) yang menyebutkan bahwa pinang mengandung alkaloid dan tanin. Hasil identifikasi menjadi dasar dilakukannya uji sitotoksik terhadap ekstrak etanol kulit buah naga dan kulit pinang.

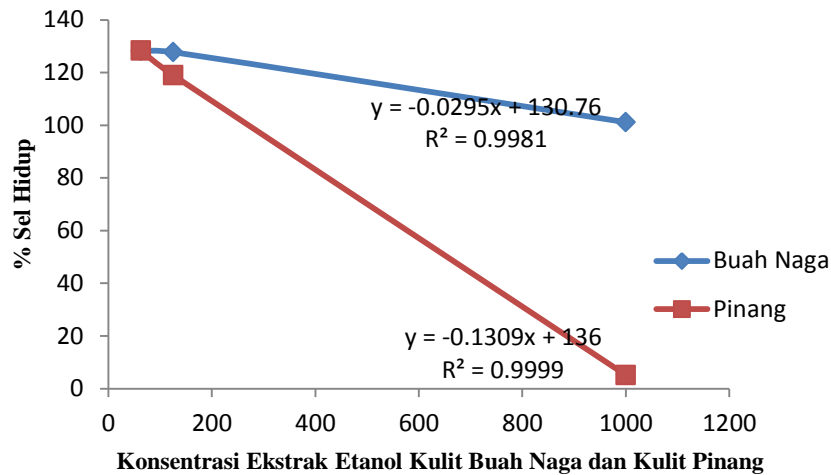
3.3 Uji Sitotoksik

Hasil uji sitotoksik menunjukkan adanya kejadian kematian sel akibat pengaruh ekstrak etanol kulit buah naga dan kulit pinang, yang ditandai dengan perubahan inti sel yang semula transparan dan berwarna cerah menjadi berwarna gelap, dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengaruh ekstrak etanol kulit buah naga dan kulit pinang terhadap morfologi sel T47D dan pembentukan formazan. (a) Kontrol sel (b) Sel dengan perlakuan ekstrak etanol kulit buah naga (c) Sel dengan perlakuan ekstrak etanol kulit pinang (d) Formazan kontrol sel setelah (e) Formazan sel perlakuan 1000 $\mu\text{g/mL}$ ekstrak etanol kulit buah naga (f) Formazan sel perlakuan 1000 $\mu\text{g/mL}$ ekstrak etanol kulit pinang.

Keterangan: → menunjukkan sel hidup, sedangkan → menunjukkan sel mati



Gambar 3. Hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol kulit buah naga dan kulit pinang vs rata-rata % sel hidup dan persamaan regresi liniernya

Hasil reaksi sel T47D dengan MTT berupa kristal formazan akan terlihat setelah MTT diberikan. Semakin banyak kristal formazan yang terbentuk, maka semakin banyak pula sel yang hidup. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kristal formazan yang terbentuk pada perlakuan ekstrak etanol kulit buah naga dan kulit pinang lebih sedikit dibandingkan dengan kontrol sel, yang menunjukkan adanya kematian sel akibat perlakuan. Hasil tersebut menunjukkan korelasi antara konsentrasi perlakuan masing-masing ekstrak terhadap tingkat kematian sel, yaitu semakin tinggi konsentrasi perlakuan ekstrak yang diberikan, maka semakin tinggi pula tingkat kematian sel. Nilai IC_{50} yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit pinang memiliki IC_{50} (661 µg/mL) yang lebih kecil dibandingkan dengan IC_{50} ekstrak etanol kulit buah naga (Tabel 3).

Tabel 3. Nilai IC_{50} Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga dan Kulit Pinang

Sampel	Persamaan Regresi Linier	IC_{50} (µg/mL)
Kulit buah naga	$y = -0,029x + 130,7$	>1000
Kulit pinang	$y = -0,130x + 136$	661

Hasil IC_{50} kemudian ditentukan sitotoksitasnya menurut kategori *National Cancer Institute* (2016), yaitu apabila memiliki $IC_{50} < 20$ µg/mL tergolong mempunyai aktivitas sitotoksik. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah naga dan kulit pinang tidak memiliki efek sitotoksik terhadap sel T47D. Terdapat beberapa penelitian mengenai buah naga dan pinang yang terlampir pada Tabel 4.

Tabel 4. Perbandingan dengan penelitian sebelumnya

Sampel	Bagian Tanaman	Uji terhadap	Metode	Hasil Studi Pustaka	Hasil Penelitian	Sumber
Buah		Sel PC3		IC ₅₀ 610 µg/mL		
Naga	Kulit	Sel Bcap-37		IC ₅₀ 450 µg/mL	IC ₅₀ >1000 µg/mL	(Luo <i>et al.</i> , 2014)
		Sel MGC-803	MTT	IC ₅₀ 430 µg/mL		
	Biji			LC ₅₀ 1,972 µg/mL		(Miranti <i>et al.</i> , 2014)
Pinang	Daun	<i>Artemia salina</i> L.	BSLT	LC ₅₀ 101,912 µg/mL	IC ₅₀ 661 µg/mL	(Runtuwene dan Paendong, 2011)
	Batang			LC ₅₀ 438,53 µg/mL		(Tampungan <i>et al.</i> , 2011)

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kulit buah naga memiliki aktivitas sitotoksik paling baik pada sel MGC-803 dengan IC₅₀ 430 µg/mL, sedangkan hasil penelitian menunjukkan IC₅₀ yang lebih besar terhadap sel T47D yaitu >1000 µg/mL. Penelitian sebelumnya mengenai pinang, menunjukkan bahwa biji pinang memiliki aktivitas sitotoksik paling baik terhadap *Artemia salina* L. dengan LC₅₀ 1,972 µg/mL, sedangkan hasil penelitian menunjukkan bahwa kulit pinang memiliki IC₅₀ lebih tinggi dibandingkan bagian tanaman lainnya. Perbedaan hasil penelitian tersebut dapat disebabkan karena beberapa faktor, yaitu asal dan kondisi geografis daerah pengambilan tanaman, rendahnya kandungan senyawa yang berpotensi memiliki aktivitas sitotoksik dalam tanaman, dan karakteristik sel kanker yang berbeda-beda menyebabkan adanya perbedaan aktivitas sitotoksik pada tiap jenis sel kanker.

4. PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa baik ekstrak etanol kulit buah naga maupun ekstrak etanol kulit pinang dengan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar >1000 dan 661 µg/mL, tidak memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah naga mengandung senyawa golongan alkaloid dan flavonoid, sedangkan ekstrak etanol kulit pinang mengandung senyawa golongan alkaloid dan tanin.

PERSANTUNAN

Terimakasih diucapkan kepada seluruh staf dan laboran Fakultas Farmasi UMS yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan artikel ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- IARC I.A. for R. on C., 2012, GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality, and Prevalence Worldwide in 2012, terdapat di: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx.
- Ikawati, M., Wibow, A.E., U, N.S.O., dan Adelina R., 2008, Pemanfaatan Benalu sebagai Agen Antikanker, terdapat di: http://ccrcfarmasiugm.files.wordpress.com/2008/06/paper_benalu_muthi.pdf.
- Jaafar R.A., Abdul Rahman A.R. Bin, Mahmud N.Z.C. and Vasudevan R., 2009, Proximate analysis of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*), *American Journal of Applied Sciences*, 6 (7), 1341–1346.
- Kementrian Kesehatan RI Pusat Data dan Informasi Kesehatan, 2015, Stop Kanker, *infodatin-Kanker*, Kementrian Kesehatan RI, Jakarta, Halaman 3.
- Kurnijasanti R., Hamid I.S. and Rahmawati K., 2008, Efek Sitotoksik In Vitro dari Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma, *J. Penelit. Med. Eksakta*, 7 (1), 48–54.
- Luo H., Cai Y., Peng Z., Liu T. and Yang S., 2014, Chemical Composition and In Vitro Evaluation of The Cytotoxic and Antioxidant Activities of Supercritical Carbon Dioxide Extracts of Pitaya (Dragon Fruit) Peel, *Chemistry Central journal*, 8 (1), 1–7. terdapat di: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3880984&tool=pmcentrez&render type=abstract>.
- Miranti, Yeni, L. F., Nurdini A., 2014, *Uji Potensi Anti Kanker Ekstrak Biji Pinang Merah dan Implementasinya dalam Pembelajaran Mitosis*, *Artikel Penelitian*, Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Mokoginta E.P., Revolta M., Runtuwene J. and Wehantouw F., 2013, Penangkal Radikal Bebas Ekstrak Metanol Kulit Biji Pinang Yaki (*Areca vestiaria* Giseke), , 2 (4), 109–113.
- National Cancer Institute, 2016, Understanding Cancer series, *NIH Public Access*, terdapat di: <http://www.cancer.gov>.
- Okonogi S., Duangrat C., Anuchpreeda S., Tachakittirungrod S. and Chowwanapoonpohn S., 2007, Comparison of Antioxidant Capacities and Cytotoxicities of Certain Fruit Peels, *Food Chemistry*, 103 (3), 839–846.
- Rätsch C., 2005, *The Encyclopedia of Psychoactive Plants: Ethnopharmacology and Its Applications*, Inner Traditions/Bear & Co, United States.
- Roche, 2016, Breast cancer A guide for journalists on breast cancer and its treatment, *Roche*, 3–6.
- Runtuwene, M. R. J. and Paendong J., 2011, Kajian Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Metanol Daun Pinang Yaki (*Areca Vestiaria* Giseke), *Chem. Prog*, 4 (2), 80–84.
- Saifudin A., 2014, *Senyawa Alam Metabolit Sekunder : Teori, Konsep dan Teknik Pemurnian*, Deepublish, Yogyakarta.